中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）34(3)：279～291（1985）

熱帶地區大蒜健康種苗培育技術之研究

林　昭　雄

摘要：大蒜爲臺灣重要內外銷蔬菜之一，由於多年來無性繁殖關係，大蒜嵌紋毒素病之發生，已甚爲普遍，對產量及品質之影響鉅大。必須加速培育大蒜健康種苗以爲挽救。

利用大蒜莖頂生長點組織培養繁殖無病毒之健康苗爲避免大蒜毒素病發生之有效方法之一，但此法費工費時，成本甚高，目前已克服許多困難，已從試管培育至第五代之組織培養苗。經生物病毒檢定結果，平均可獲得52.10%之無病毒級種苗，21.01%之微病毒級種苗。品種方面，白葉種比黑葉種之感毒素病性較大。

一般商業用種瓣含病毒很高，屬於重病毒級植株達 83.33%，但其珠芽苗所含之病毒較少，無病毒級佔7.14%，微病毒級有 21.43%，而且珠芽大小相當於第２～３代之組織培養種球，如配合適當之熱療使微病毒級或輕病毒級之組織培養種球或珠芽之病毒不活化，而加以利用，可減低大蒜健康種苗之培育成本。

熱療處理雖無法除去病毒，但對病毒之不活化有效。如採用熱水熱療以 48～50°C 熱水處理15分鐘爲宜，54°C 處理15分鐘發芽會減低40%，而 54°C 熱水處理30分鐘爲大蒜蒜瓣熱水熱療之致死溫度與時間。如採用熱風熱療則以 40°C 熱風處理蒜球70天，蒜瓣60天爲宜。

大蒜（Allium sativum）屬於石蒜科之重要蔬菜，除可供青蒜、蒜苔、蒜球作新鮮蔬菜外，尚可加工製成蒜片、蒜粉或油精等。目前臺灣地區大蒜栽培面積達12,265公頃，生產量 124,740公噸，價值7億8千萬元[8]，爲臺灣之重要內外銷蔬菜之一。大蒜病害甚多，有眞菌性的黑斑病 Purple leaf spot（Alternaria porri），銹病（Puccinia allii），菌核病 Sclerotinia rot（Sclerotinia spp.）黑黴病 Black mould（Mycosphaerella schonoprasi），細菌性軟腐病 Erwinia rot（Erwinia spp.）及毒素病 Virus diseases（Garlic mosaic virus, garlic latent virus, onion yellow dwarf virus, tabcco mosaic virus）等，其中以大蒜嵌紋病最爲普遍[5]。

Brierley 與 Smith（1944）報告所有栽培大蒜幾乎全部罹患嵌紋病[13]，Havranek（1972）也報告嵌紋病毒能造成麟莖蒜球減產32—45%[14]，韓國羅氏（1973）報告韓國之大蒜幾乎全部感染病毒[21]，在臺灣大蒜多年來因連作及無性繁殖關係，品種方面已有退化現象，加上臺灣位於熱帶地區毒素病之罹病率頗高，帶毒植株甚爲普遍[5]，周氏（1975）調查臺灣栽培之大蒜具嵌紋病徵者高達100%，且遍布全省，罹病植株在葉脈間形成嵌紋濃綠與淺黃線條之斑紋，生育不良，形成鱗莖變小[6]，目前大蒜毒素病已嚴重影響品質及產量，有加速培育健康種苗種植之必要。

在植物病理學上，利用生長點組織培養無病毒苗，以達防治毒素病之目的已有成功實例[20,29]。有關大蒜之莖頂生長點組織培養亦有人嘗試[3,9,14,]惟尚未達實用化階段。近年來作者（1982）在鳳山熱帶園藝試驗分所隔離網室內從事大蒜組織培養苗培育工作，發現由大蒜莖頂生長點培養之幼苗甚爲

1.臺灣省農業試驗所　研究報告第 1231號。

2.本所鳳山熱帶園藝試驗分所研究員兼蔬菜系主任。臺灣省　高雄縣　鳳山市。

纖細，由試管移植後之培育與繁殖甚不容易，要培育成爲普通可種植之種瓣大小，費工費時，目前雖已克服許多困難，培育至第五代組織培養苗[5]。惟初步利用指示植物藜（Chenopodium amaranticolor）作生物檢定結果，尙有部分出現局部病斑（Local lesion），顯示利用大蒜莖頂生長點之培育，只能獲得低病毒之種苗。同時單株取樣接種作生物病毒檢定，增加生產成本甚高。因此，除培育完全無病級（Virus free grade）種苗外，是否能就低病毒種球或一般珠芽（Bulbil）配合熱療（Heat therapy）或化學藥劑處理供作低病毒級（Low titre grade）種苗之可行性加以探討，期能早日實用化。

材料與方法

一、臺灣大蒜毒素病發生情形調查

於大蒜栽培期間到本省主要大蒜生產地區如伸港、莿桐、麥寮、學甲等地逢機取樣調查大蒜毒素病發生情形。每地區調查 5 區，每區隨機調查200株。依據病徵出現程度將發病等級分爲 M_0：無嵌紋病徵株，M_1：葉片面積一半以下具嵌紋病徵株，M_2：葉片面積一半以上具嵌紋病徵株，Y：黃萎病徵株等四級求其發病率。並將無嵌紋病徵之大蒜葉片取樣做病毒之生物檢定，究明是否無病毒植株。

二、栽培品種與大蒜毒素病之關係

於大蒜生育後期，就鳳山熱帶園藝試驗分所蒐集保存的大蒜品種中，選擇臺灣主要栽培品種作調查。各品種逢機取樣 200株調查大蒜毒素病發生情形。依據病徵出現程度將發病等級分爲 Mo, M_1, M_2, Y 等四級，求其罹病性差異。並將無嵌紋病徵之大蒜葉片取樣做病毒之生物檢定，究明是否無病毒植株。

三、大蒜試管苗之培育：

將鳳山熱帶園藝試驗分所之鳳選一號，鳳選二號大蒜品種之蒜瓣，經超音波洗淨器（Ultrasonic cleaner）洗淨表面，再經75%之酒精行表面消毒，然後在 8 ～32倍之解剖顯微鏡下切取高約 300μ 之莖頂生長點圓錐體（Shoot apical dome）置於適宜的培養基上作試管無菌培養，培育大蒜試管苗。試管苗材料由中央研究院植物研究所供給[3]，鳳山熱帶園藝試驗分所將試管內之大蒜苗體移至隔離網室內經消毒過之最適培養土中，細心培育組織培養苗第一代、第二代、第三代、第四代[5]及第五代。生長點培養所得之植株葉片均不具嵌紋病徵，但爲判定有無病毒，仍以指示植物——藜（Cheno podium amaranticolor）作病毒之生物檢定。

四、大蒜嵌紋病毒的生物檢定：

將供試大蒜植株之葉片分別加上 5 倍量 0.1M 磷酸緩衝液（phosphate buffer）pH7.0 在消毒過的研磨鉢中研磨，研磨後再用兩層紗布過濾，以此過濾液作爲接種源接種到健全之指示植物藜（chenopodium amaranticolor）葉上作爲檢定之用[1,7,10]。

接種之前去帶紅色素的心葉，側芽及最底部的二葉。全葉接種，採用拉丁方設計（Latin square design）。接種前在其葉片上均勻撒布一層 600 mesh 金剛砂（Carborundum）以沾有接種源之棉花或玻璃小棒在葉片上輕輕擦拭，然後以自來水冲洗葉表面，除去殘留的金剛砂。接種後一週、二週、三週、定期分別調查接種葉上所形成之局部病斑（Local lesion）數目，間接測定病毒之相對感染力或濃度[7]。

五、大蒜嵌紋病之不活化試驗

本研究分別以㈠物理的治療法——熱療處理，㈡化學的治療法——藥劑處理，㈢生物的治療法——生長點組織培養等三種方法或作配合處理來探討大蒜嵌紋病毒之不活化情形及尋求最經濟實用之方法。其中藥劑處理部分，將另文討論，組織培養則述於本文結果與討論第五項。

熱療法（Heat therapy）分熱水熱療處理（Hot water treatment）與熱風熱療處理（Hot air

treatmant）兩種。

熱水熱療處理分兩次進行，第一次於民國70年1月28日，以5種溫度 52, 54, 56, 58, 60°C 及4種時間 15,30,45,60 分鐘組合成20個處理。第二次於民國70年11月11日以6種溫度 48, 50, 52, 54, 56, 58°C及3種時間15,30,45分鐘組合成18個處理，兩次均以 20°C 水溫浸30分鐘為對照處理（如表3.4）每處理20枚蒜瓣。

熱風處理在溫度 40°C 之定溫箱內，時間分40.50.60.70天等四處理，供試材料再分蒜球(Bulb)及蒜瓣（Clove）兩種處理（如表6），所用品種為鳳選二號。

70年2月5日於田間大蒜植株上接種 GMV 病毒，70年4月採收蒜球貯藏，8～10月間行 40°C 熱風熱療處理，11月種植於隔離網室內，71年2月2日將接種種源取樣稀釋5倍液接種於藜（Chenopodium amaranticolor）指示植物葉片上，每處理5葉片（五重複）採拉丁方設計排列。

以上各實驗處理後將供試材料栽植於隔離網室內，調查其發芽情形及生長情形（株高、葉數）並在供試植株之葉片抽樣接種到指示植物上，做大蒜嵌紋病毒的生物檢定，調查接種葉上形成之局部病斑消長情形，探討各處理對大蒜嵌紋病毒之不活化效果比較，並判定供試種蒜為無病毒級（Virus-free grade）或低病毒級（Low titre grade）種苗。

結果與討論

一、臺灣大蒜毒素病發生情形調查：

於大蒜生產期間至臺灣大蒜栽培地區包括莿桐、伸港、麥寮、學甲等地區抽樣調查大蒜毒素病發生情形結果如表1所示。莿桐地區莿桐白葉品種平均發生黃萎病 0.75%，輕微大蒜嵌紋病徵者12.75%，嚴重大蒜嵌紋病徵者4.50%，無大蒜嵌紋病徵者有82%。伸港地區伸港黑葉品種平均發生黃萎病1.63%，輕微嵌紋病者20.62%，嚴重嵌紋病者9.13%，無嵌紋病徵者68.62%。麥寮地區硬骨黑葉品種輕微嵌紋病株有61.75%，嚴重嵌紋病徵株有36.75%，無嵌紋病徵株僅為1.25%。一般言大蒜毒素病可分黃萎病（Yellow dwarf）與嵌紋病（Mosaic）兩種，前者感染後植株顯著矮化，葉變黃而萎縮，不結大球，完全無收穫，影響產量及收益甚大，所幸發病率僅在0～3.50%之間，佔極少比率。後者感染後植株葉片呈現濃綠與淺黃線條之嵌紋病徵，減低光合作用，影響單球之肥大，對大蒜蒜球品質及單位面積產量之影響鉅大。葉片嵌紋病徵愈多光合作用愈降低，蒜球大小或單球重愈小，據調查結果顯示，輕微嵌紋病株（葉片面積¼具嵌紋病徵）比無嵌紋病徵株者單球重減低約20%，嚴重嵌紋病株（葉片面積½具嵌紋病徵）比無病徵株者單球重減低約30%[5,6]，因此吾人可根據大蒜毒素病病徵發生情形而預估蒜球之產量，而且如能培育無病毒種蒜種植，則可大大提高大蒜之單球重及品質。

二、栽培品種與大蒜毒素病之關係：

臺灣地區大蒜地方品種繁多，且均有退化現象，尤其毒素病之發生情形差異甚大，本分所蒐集之大蒜品種與毒素病之罹病性之關係，經詳細調查，其結果如表2所示。本試驗供試調查23品種，均未發現黃萎病株（Y）。無嵌紋病徵株（M_0級）平均24.52%，輕微嵌紋病徵株（M_1級）平均達68.79%，而嚴重嵌紋病徵株（M_2 級）平均亦達6.69%。

就品種間之差異而言，安南蒲蒜品種 M_0 級（無嵌紋病徵）僅8.50%，西螺南興硬骨大白葉品種僅11.00%，溪州硬骨黑葉品種僅12.50%，為罹病性較高之品種。而莿桐硬骨大黑葉品種 M_0 級為38.50%，二崙硬骨黑葉品種 M_0 級為38.50%，學甲硬骨大黑葉品種為38%，為罹病性較低品種。

就黑葉與白葉種來比較，白葉種之感病性較大（表2）莿桐硬骨大黑葉品種 M_0 級 38.50%，而莿桐硬骨大白葉品種 M_0 級僅為29.50%，二崙硬骨黑葉品種 M_0 級為38.50%，二崙硬骨大白葉品種 M_0 級僅為 26.00%，西螺公館硬骨大黑葉品種 M_0 級為 31.62%，西螺南興硬骨大白葉 M_0 級僅為11.00%。

表1. 臺灣大蒜生產地區毒素病發生情形調查

Table 1. The occurrence of virus diseases in Taiwan garlic production areas.

調查地區 Locality	栽培品種 Cultivar	種植日期 Date Planted	調查日期 Date investigated	大蒜毒素病株(%) Garlic virus diseased plants			
				M_0	M_1	M_2	Y
莿桐 A	莿桐硬骨白葉	71.10. 1	72. 1.27	82.50	12.50	5.00	0
莿桐 B	莿桐硬骨白葉	71.10.15	72. 1.27	87.00	10..00	3.00	0
莿桐 C	莿桐硬骨白葉	71.11. 5	72. 1.27	80.00	13.50	5.00	1.50
莿桐 D	莿桐硬骨白葉	71.11.20	72. 1.27	78.50	15.00	5.00	1.50
莿桐地區平均	莿桐硬骨白葉	—	72. 1.27	82.00	12.75	4.50	0.75
伸港 A	伸港硬骨黑葉	71.11.18	72. 3. 4	56.50	27.50	12.50	3.50
伸港 B	伸港硬骨黑葉	71.10.20	72. 3. 4	60.50	25.50	11.50	2.50
伸港 C	伸港硬骨黑葉	71.10.31	72. 3. 4	77.50	15.50	6.50	0.50
伸港 D	伸港硬骨黑葉	71.10.29	72. 3. 4	80.00	14.00	6.00	0
伸港地區平均	伸港硬骨黑葉	—	72. 3. 4	68.62	20.62	9.13	1.63
麥寮 A	麥寮硬骨黑葉	71.10.20	72. 3.10	2.50	54.50	43.00	0
麥寮 B	麥寮硬骨黑葉	71.10.24	72. 3.10	0	69.00	30.50	0.50
麥寮地區平均	麥寮硬骨黑葉	—	72. 3.10	1.25	61.75	36.75	0.25
學甲 A	學甲花蒜	71.10.15	72. 3.10	74.00	19.50	6.50	0
學甲 B	學甲花蒜	71.10.18	72. 3.10	73.00	20.00	6.00	1.00
學甲地區平均	學甲花蒜	—	72. 3.10	73.50	19.75	6.25	0.50

註：1.發病等級：M_0 ：無嵌紋病徵株
M_1 ：葉片面積一半以下具嵌紋病徵株
M_2 ：葉片面積一半以上具嵌紋病徵株
Y ：黃萎病株
2.百分率爲各地區調查200株之平均值

此等以肉眼觀察爲無嵌紋病徵植株 (Symptomless plant) 並不一定爲無病毒植株 (Virus-free plant) 。由肉眼觀察無嵌紋病徵之植株取樣葉片進行大蒜嵌紋病毒之生物檢定，結果在指示植物藜葉片上均有局部病斑 (Local lesion) 出現。顯示無嵌紋病徵植株並非無病毒植株，或可能爲大蒜潛在病毒 (Garlic latent virus) 。

表2. 大蒜栽培品種對毒素病感病性之反應

Table 2. Reaction of cultivars to the susceptibility of garlic virus diseases

品種名稱	大蒜毒素病株 Garlic virus diseased plant (%)			
Cultivar	M_0	M_1	M_2	Y
鳳選一號(硬骨大葉)	21.00	67.00	12.00	0
鳳選二號(硬骨黑葉)	25.50	68.00	6.50	0
莿桐硬骨大黑葉	38.50	54.00	7.50	0
莿桐硬骨大白葉	29.50	62.50	8.00	0
二崙硬骨黑葉	38.50	57.00	4.50	0
二崙硬骨大白葉	26.00	65.00	9.00	0
西螺公館硬骨大黑葉	31.62	66.30	1.75	0
西螺南興硬骨大白葉	11.00	75.50	13.50	0
伸港硬骨黑葉	32.50	63.00	4.50	0
溪州硬骨黑葉	12.50	75.00	12.50	0
虎尾硬骨大黑葉	38.00	61.00	1.00	0
麥寮硬骨大黑葉	13.50	81.50	5.00	0
安南蒲蒜(硬骨大黑葉)	8.50	79.00	12.50	0
學甲硬骨大黑葉	38.00	55.50	6.50	0
學甲軟骨	21.14	73.60	5.26	0
學甲花蒜(軟骨大白葉)	38.00	59.00	3.00	0
巴　西(硬骨大葉)	19.00	73.50	7.50	0
秘　魯(硬骨大葉)	26.00	72.00	2.00	0
優D(硬骨大黑葉)	15.00	83.33	1.67	0
G 8(硬骨大黑葉)	27.50	68.00	4.50	0
50—34(硬骨大葉)	22.00	72.50	5.50	0
S—8(硬骨大葉)	11.67	74.16	14.17	0
S—5(硬骨大黑葉)	19.00	75.50	5.50	0
平　均	24.52	68.79	6.69	0

註:1. M_0 :無嵌紋病徵株(non-mosaic symptom plant)
　　M_1 :輕微嵌紋病徵株(Mild mosaic symptom plant)
　　M_2 :嚴重嵌紋病徵株(Severe mosaic symptom plant)
　　Y :黃萎病株(Yellow dwarf plant)
　2.供試品種種植日期爲71年10月7日,調查日期爲72年3月7日
　3.調查地點爲鳳山熱帶園藝試驗分所蔬菜試驗區,百分率爲各品種調查200株之平均值。

三、熱水熱療對大蒜嵌紋病(GMV)不活化試驗:

熱水處理爲一種最經濟最迅速之治療病毒的方法。據 Steib 等氏 (1954) 報告 50°C 溫湯處理2小時對甘蔗之 Ratoon stunting 有效[29],利用 50°C 溫水處理桃枝條8分鐘可防Peach rosette,處理桃芽6~15分鐘可防 Peach x disease[29]。又利用 53°C 熱水處理唐菖蒲球根60分鐘可顯著

降低唐菖蒲之黃萎凋毒素病（BYMV）及胡瓜嵌紋毒素病(CMV)病徵[1]。如此以熱水(Hot water)處理繁殖體後種植，雖仍有病毒存在，但病徵顯著降低，似乎對病毒之不活化有效。本試驗以熱水處理大蒜種瓣以究明其利用價值或可行性。

第一次熱水熱療的結果如表 3 及圖 1 所示。處理後之種瓣燙傷度與處理溫度及時間成正比。所用蒜瓣因貯藏甚久，至一月下旬利用時已呈衰弱狀態，經熱療處理的種瓣種植後皆無成活。第二次實驗結果如表 4 所示。大蒜種蒜的熱水熱療處理以 48—50°C 熱水處理15分鐘為宜，否則會影響植株生育初期之生長。又種瓣之發芽率經 48°C×45′, 50°C×15—45′, 52°C×15—30′ 等處理減低 5 %，經

表3. 熱水熱療對大蒜種瓣燙傷之影響

Table 3. Effect of hot water treatment on the heat injury of garlic cloves

處理代號 Treatment	溫度(°C) Temperature	時間(分) Time (min)	燙傷瓣數 Injured cloves (No)	(%)	種植後成活率 Survival plant (%)
A—1	52	15	11	55	0
A—2	52	30	12	60	0
A—3	52	45	14	70	0
A—4	52	60	16	80	0
B—1	54	15	13	65	0
B—2	54	30	14	70	0
B—3	54	45	16	80	0
B—4	54	60	17	85	0
C—1	56	15	15	75	0
C—2	56	30	16	80	0
C—3	56	45	17	85	0
C—4	56	60	19	95	0
D—1	58	15	16	80	0
D—2	58	30	17	85	0
D—3	58	45	18	90	0
D—4	58	60	20	100	0
E—1	60	15	17	85	0
E—2	60	30	17	85	0
E—3	60	45	19	95	0
E—4	60	60	20	100	0
Check	20	30	0	0	100

註：1.供試品種：黑葉硬骨種。
2.供試瓣數：每處理20個蒜瓣，21處理共計420個蒜瓣。
3.處理及種植日期：70年 1 月28日。

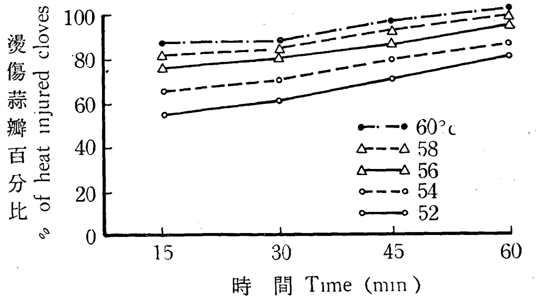

圖1. 熱水熱療對蒜瓣燙傷度之影響

Fig. 1. Effect of hot water treatment of the heat injury of garlic cloves

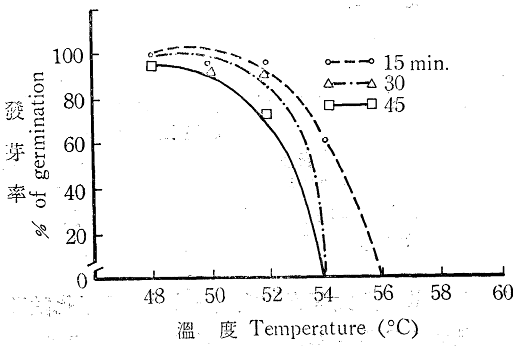

圖2. 熱水熱療對蒜瓣發芽率之影響

Fig. 2. Effect of hot water treatment on the percentage of germination of garlic cloves

表4. 熱水熱療對大蒜種瓣生長力之影響

Table 4. Effect of hot water treatment on the plant growth of garlic cloves

處理代號 Treatment	溫度 Temp. (°C)	時間 Time (min)	30天後生長度 Plant growth of 30 days: 發芽率 % of germination	葉數 No. of leaves	指數 Index	株高 plant height	指數 Index	130天後生長度 plant growth of 130 days: 葉數 No. of leaves	指數 Index	株高 plant height	指數 Index
A—1	48	15	100	3.60	79.12	17.68	72.54	10.15	103.25	51.85	101.03
A—2	48	30	100	3.45	75.82	17.09	70.12	10.47	106.51	50.76	100.85
A—3	48	45	95	3.58	73.68	16.68	68.44	9.82	99.89	45.47	90.34
B—1	50	15	95	3.63	79.78	19.94	81.82	11.22	114.14	44.94	89.29
B—2	50	30	95	2.84	62.41	11.32	46.45	8.94	90.94	39.11	77.70
B—3	50	45	95	2.79	61.31	8.65	35.49	8.94	90.94	39.35	73.18
C—1	52	15	95	3.21	70.54	11.60	56.94	9.89	100.61	40.44	80.34
C—2	52	30	90	2.61	57.36	9.11	37.38	9.19	93.48	42.75	84.93
C—3	52	45	75	3.00	65.93	8.83	36.23	9.18	93.38	42.36	84.16
D—1	54	15	60	2.94	64.61	7.99	32.78	7.88	80.16	39.25	77.98
D—2	54	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D—3	54	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E—1	56	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E—2	56	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E—3	56	45	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F—1	58	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F—2	58	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F—3	58	45	0		0	0	0	0	0	0	0
Check	20	30	100	4.55	100	24.37	100	9.83	100	50.33	100

註：1.供試品種：黑葉硬骨種。

2.供試瓣數：每處理20個蒜瓣，19處理共計380個蒜瓣。

3.處理及種植日期：70年11月11日處理後種植於隔離苗床。

4.生長度調查日期：第一次於70年12月11日（種植後30天）。
第二次於71年3月21日（種植後130天）。

52°C×45′ 處理減少25%，54°×15′ 處理則減少40%，而超過54°C×30′ 處理則完全不發芽，故54°C×30′ 處理為大蒜蒜瓣熱水熱療之致死溫度與時間（圖2、3）。

蒜瓣經 54°C 熱水處理15分鐘則不僅發芽率僅達60%，而且種植後其生長度受影響很久。30天之葉數僅為對照區之65%，株高僅為 33%，130天之葉數僅為對照區之80%，株高仍僅為78%，然而對 GMV 之不活化效果維持甚久。如從後代植株（處理後14個月或後代種植後80天）取樣接種於藜指示植物上，結果如表5所示。接種後一週、二週未發現局部病斑到第三週才出現甚少量之局部病斑（單葉片平均4.5）。再從後代植株（種植後100天）之葉片取樣接種，第三週出現之局部病斑數仍極少，單葉片平均1.0可見熱療處理後之成效效果甚久，如圖4及表5所示。

一般言，熱處理溫度愈低對植物之生長度的影響愈少，如在 52°C 熱水處理15分鐘，30天之葉數為對照區之71%，株高為57%，130天之葉數為對照區之100%，株高仍為對照區之80%。如在 50°C 熱水處理15分鐘，30天之葉數為對照區之80%，株高為82%，130天之葉數為對照區之114%，株高仍為90%，且對後代植株之 GMV 不活化仍然有效，局部病斑僅為16／葉片。如在 48°C 熱水處理15分鐘，30天之葉數為對照區之80%，130天之葉數為對照區之 103%，株高101%顯示溫度愈高對抑制病毒活化之效果愈大。時間愈長則反得不利之影響，其原因有需進一步之探討。

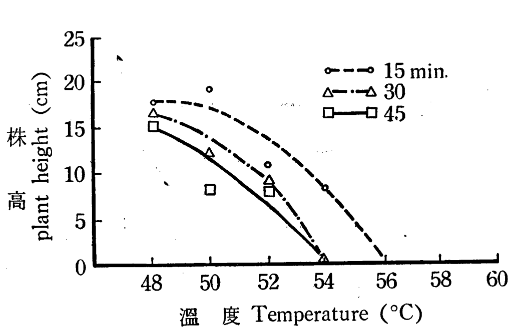

圖3. 熱水熱療對大蒜株高之影響

Fig. 3. Effect of hot water treatment on the plant height of garlic

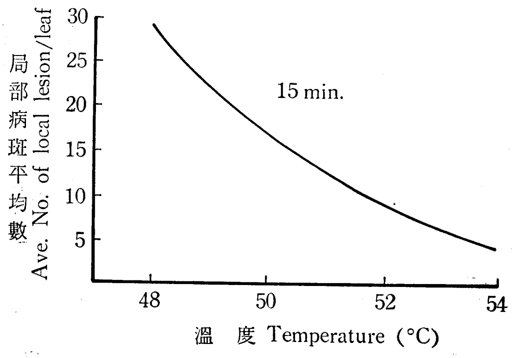

圖4. 熱水熱療對後代植株 GMV 不活化之影響

Fig. 4. Effect of hot water treatment on the inactivation of GMV in the next generation.

表5. 熱水熱療對後代植株 GMV 不活化之影響

Table 5. Effect of hot water treatment on the inactivation of GMV in the next generation.

處理溫度 Temp. (°C)	處理時間 Time(min)	感染葉/接種葉 Infected leaf/Inoculated leaf			局部病斑平均數 Ave. No. of Local lesion/leaf		
		1W	2W	3W	1W	2W	3W
48	15	0/2	1/2	1/2	0	5.0	29.0
48	45	1/2	2/2	2/2	1.5	17.5	91.5
50	15	0/2	2/2	2/2	0	14.0	16.0
50	45	0/2	2/2	2/2	0	51.5	65.0
52	45	0/2	2/2	2/2	0	13.5	62.0
54	15	0/2	0/2	2/2	0	0	4.5

註：1.供試品種：黑葉硬骨種。

2.熱水熱療及種植日期：70年11月11日種植。

70年4月19日採收蒜球。

71年11月10日再種植。

3.接種日期：72年2月2日，將接種源病毒5倍液接於2片藜葉上。

4.調查日期：接種後1、2、3週。

四、熱風熱療對大蒜嵌紋毒素病（GMV）不活化試驗：

熱風（Hot air）熱療處理對病毒不活化有效之例也很多。如胡瓜種子以 70°C 熱風處理72小時可防 CGMMV 。草莓種苗以 37°C 熱風處理 7～10日可防 leaf burn 等 8 種 Virus，馬鈴薯塊莖以 37°C 處理30天，可使 leaf roll virus 不活化。香石竹以 36°C 熱風處理24日，可防 Carnation ring spot，桃苗以 35°C 熱風處理24日，可防 Peach yellow 等病害[11,16]。熱風熱療處理大蒜，並根據接種結果作綜合分析，以 B—70 及 C—60 處理之效果最大（表6），亦即如用蒜球行 40°C，熱風熱療則以70天處理，如用蒜瓣作 40°C 風熱熱療則以60天爲最宜。

表6. 熱風熱療處理對 GMV 不活化之影響

Table 6. Fffect of hot air treatment on the inactivation of GMV in current plant

處理代號 Treatment	感染葉/接種葉 Infected leaf/Inoculateed leaf			局部病斑平均數 Ave. No. of Local lesion/leaf		
	1W	2W	3W	1W	2W	3W
B—40	4/5	4/5	3/5	4.2	2.4	5.0
B—50	2/5	1/5	2/5	0.8	0.8	1.6
B—60	3/5	4/5	3/5	2.8	2.6	1.8
B—70	0/5	0/5	0/5	0	0	0
C—40	2/5	2/5	4/5	0.6	0.8	3.4
C—50	1/2	2/5	3/5	0.6	0.6	1.6
C—60	0/5	0/5	0/5	0	0	0
C—70	1/5	1/5	2/5	0.6	0.8	0.4

註：1.供試品種：鳳選二號。
2.供試材料：70年2月5日於田間大蒜植株上接種 GMV。
3.B—40：蒜球（Bulb）經 40°C 熱風處理40天。
C—70：蒜瓣（Clove）經 40°C 熱風處理70天。
4.熱風處理期間：70年8月～10月。
5.種植期間：70年10—11月種植於隔離網室內木箱中。
6.接種日期：71年2月2日生育中期將每接種源病毒5倍液接於5片藜葉上，五重複，拉丁方排列設計。
7.調查日調：接種後1、2、3週。

五、生物的治療法——組織培養法與大蒜嵌紋毒素病之關係：

以生長點組織培養根除植物體內病毒之構想源自 Morel Martin (29,3) 之培養罹毒素病大理花之莖頂，獲得無病毒個體，繼之有 Morel Martin (29), Kassanis (19,20) 王盧 (2) 等人之馬鈴薯；Holmes (29) 和 Nielsen (24) 之甘藷，Phillips (26) 之香石竹等無毒化之成功。

因此利用生長點組織培養繁殖無病毒之健康苗爲避免毒素病發生之有效方法之一，我國在培養草莓與馬鈴薯之無病毒種苗方面亦已獲得良好之研究結果，而且已經進入實用階段。惟大蒜方面由莖頂生長點培養之幼苗甚爲纖細，要培育成爲普遍可種植之種瓣大小，費工費時，而且在幼苗之結球，休眠與貯藏方面需要克服許多困難才能成功。近年來作者等在鳳山熱帶園藝試驗分所隔離網室內從事組織培養苗培育工作，目前已克服許多困難，從試管培育至第五代組織培養苗 (5)。生長點培養所得之後代植株不具嵌紋病徵，但經接種到指示植物藜上，有部分植株造成局部病斑（Local Lesion）；部分植株並不造成局部病斑，初步判定爲無病毒。將組織培養後代植株葉汁液接種到指示植物藜（Chenopodium amaranticolor）葉片上之反應結果列於表7。

鳳選一號組織培養第一代苗，A 級100%，第二代苗 A 級71.42%，B 級14.29%，C 級14.29%，第三代苗 A 級50%，B 級50%，第四代苗 B 級100%，第五代苗 A 級20%，D 級20%，E 級60%。鳳選二號組織培養第一代苗 B 級100%，第二代苗 A 級70.83%，B 級4.17%，C 級8.33%，E 級16.67%，第三代苗 A 級55.56%，B 級33.33%，D 級11.11%，第四代苗 A 級20%，B 級30%，E 級50%，第五代苗 A 級33.33%，B 級33.33%，D 級16.67%，E 級16.67%。71/72年期將鳳選一號及鳳選二號兩個品種之組織培養種苗中抽樣69株檢定結果，可得 A 級50.72%，B 級21.74%，C—E級27.54%，72/73年期抽樣119株檢定結果可得 A 級52.10%，B 級21.01%，C—E級26.89%。

表7. 大蒜種蒜接種於檢定植物之反應

Table 7. Reaction of garlic clones inoculated on the indicator plants.

檢定材料 Materials tested	檢定株數 Plants tested	等級株數 No. of grade A	B	C	D	E	等級百分率 % of grade A	B	C	D	E
鳳一組培 第一代	2	2	0	0	0	0	100	0	0	0	0
第二代	7	5	1	1	0	0	71.42	14.29	14.29	0	0
第三代	2	1	1	0	0	0	50.00	50.00	0	0	0
第四代	3	0	3	0	0	0	0	100	0	0	0
第五代	5	1	0	0	1	3	20.00	0	0	20.00	60.00
鳳二組培 第一代	1	0	1	0	0	0	0	100	0	0	0
第二代	24	17	1	2	0	4	70.83	4.17	8.33	0	16.67
第三代	9	5	3	0	1	0	55.56	33.33	0	11.11	0
第四代	10	2	3	0	0	5	20.00	30.00	0	0	50.00
第五代	6	2	2	0	1	1	33.33	33.33	0	16.67	16.67
鳳一珠芽第二代	4	1	0	1	0	2	25.00	0	25.00	0	50.00
花蒜珠芽第一代	14	1	3	2	0	8	7.14	21.43	14.29	0	57.14
花蒜蒜瓣	6	0	0	1	0	5	0	0	16.67	0	83.33
鳳一梅峰	4	0	4	0	0	0	0	100	0	0	0
鳳二梅峰	3	0	0	1	2	0	0	0	33.33	66.67	0
埔里珠芽 CS—4	4	4	0	0	0	0	100	0	0	0	0
54°C×15′ 第二代	1	0	1	0	0	0	0		0	0	0
71/72 年期組織培養種蒜	69	35	15	3	3	13	50.72	21.74	4.35	4.35	18.84
72/73 年期組織培養種蒜	119	62	25	10	5	17	52.10	21.01	8.40	4.20	14.29

註：1.病毒等級A：無病毒級 Local lesion 平均數0
B：微病毒級 Local lesion 平均數0.1～5
C：輕病毒級 Local lesion 平均數5.1～15
D：中病毒級 Local lesion 平均數15.1～30
E：重病毒級 Local lesion 平均數>31

組織培養苗中，出現帶病毒之個體，很可能由於切取生長點太大所致，可能超過 200μ 以上，一般大蒜之生長點在休眠狀態下深藏在鱗瓣中，此時之生長點體積較小，未行細胞分裂，不但切取生長點困難，培養成活率低，而且有毒素病存在之可能，不宜作爲培養之材料[3] 經收水後 7—8 日長出根和葉之鱗瓣中之生長點，其周圍之葉由面包圍生長點，使生長點不易被細菌污染，且此時細胞分裂旺盛，培養成活率較高，但幼葉原體（leaf primordia）宜除去，不能隨圓錐體（dome）一同摘出培養，才能獲得根除毒素病原之個體[3,29]。通常 explant size 愈大，培養成活率愈高，但爲免除病毒，則以 excised meristen 愈小愈可能。爲了兼顧成活率及無病毒，採用中等大小爲宜，如小於 0.3mm 則不可能發根，大於 0.7mm 則仍有病毒存在之可能。至於大蒜方面據 Havranek (1972) 報告切取大蒜幼苗 400—500μ 大小之生長點培養在 MS 培養基，所得到的植株無病毒的比例爲45—87%[14]。因此大蒜組織培養苗所用之莖頂生長點 50μ. 100μ. 200μ. 300μ. 400μ 不同大小，以何種大小最適，有再試驗究明之必要。此外大蒜毒素病之傳染方法在臺灣尙無人作有系統之研究，缺乏基本文獻，如葱蚜（Fullawayella formosana），棉蚜（Aphis gossypii），葱薊馬（Thrips tabaci），銹蜱蝨（Rust mite）等害蟲之媒介功能或傳播能力亦須探明，以供本省大蒜健康種苗繁殖制度之建立與輔導工作之依據。一般蒜瓣（供試品種爲學甲花蒜）含病毒很高，屬於 E 級者達83.33%，屬於 C 級者16.67%，而 A. B 兩級均無，但其珠芽苗所含之病毒較少，A 級有7.14%，B 級21.43%，C 級14.29%，E 級僅57.14%，同時鳳選一號珠芽第二代苗 A 級25%，C 級25%，E 級

佔50%。珠芽珠球大小相當於組織培養苗第二或第三代之珠球大小，如配合熱療或藥劑處理再利用血清檢定方法或 ELISA 技術，很快地判定珠芽苗之等級則可節省很多時間與人力而且可減低大蒜健康種苗之培育成本，因此作者盼有關大學研究所或從事植物病理之研究人員加速努力研究，建立一套可實用於檢定大蒜嵌紋病毒之 ELISA 技術或制度。

結　論

1.大蒜爲臺灣重要內外銷蔬菜之一，多年來因連作及無性繁殖關係，大蒜嵌紋毒素病甚爲普遍，已對品質及產量影響鉅大，有加速培育大蒜健康種苗挽救之必要。

2.利用生長點組織，培養無病毒苗以達防治毒素病方法已有成功實例，而利用大蒜莖頂生長點組織培養雖亦有人嘗試，但尚未達實用化階段。目前作者已克服許多困難，從試管培育至組織培養苗第五代，但經生物病毒檢定結果，未能獲得 100%之無病毒種苗，以致其培育成本增加甚大。本研究就大蒜健康種苗之培育技術做一系列的病毒不活化處理實驗與探討，以便能減輕大蒜無病毒種苗之生產成本及提供一般健康種苗，能早日實用化爲目的。

3.臺灣大蒜生產地區，可發現兩種型態之毒素病病徵，一爲黃萎型（Yellow dwarf type），另一爲嵌紋型（Mosaic type），前者感染後植株顯著矮化，葉變黃而萎縮，無蒜球可收，影響產量收益甚大，所幸發病率僅在 0 —3.5%之間，佔極少比率。後者感染後植株葉片脈間，呈現濃綠與淺黃線條之嵌紋病徵，降低光合作用，影響蒜球之肥大，罹病株雖平均單球重減低20—30%，但發病率甚高，如麥寮地區硬骨黑葉品種有嵌紋病徵植株者已達98.75%，影響單位面積產量及品質鉅大。

4.大蒜栽培品種對毒素病之感病性有差異，調查23個供試品種，均無發現黃萎病株，無嵌紋病徵株平均24.52%，輕微嵌紋病徵株68.79%，嚴重嵌紋病徵株平均6.69%，罹病性較高之品種有安南蒲蒜、西螺南與硬骨大白葉與溪州硬骨黑葉，具嵌紋病徵植株達91.50—87.50%，罹病性較低之品種有莿桐硬骨大黑葉，二崙硬骨黑葉與學甲硬骨大黑葉，具嵌紋病植株約爲62%。一般言，白葉種比黑葉種之感毒素病性較大。

5.熱療處理雖無法除去病毒，但對病毒之不活化有效。大蒜蒜瓣如需要熱水熱療處理則以 48—50°C 熱水處理15分鐘爲宜，否則會影響植株生育初期之生長度（包括葉數及株高）。又48°C×45′, 50°C×15—45′, 52°C×15—30′ 等處理，使種瓣之發芽率減低 5 %， 52°C×45′ 處理使發芽率減25%，54°C×15′ 處理則發芽率減40%，而超過 54°C×30′ 處理則完全不發芽。故 54°C×30′ 處理爲大蒜蒜瓣熱水熱療之致死溫度與時間。如蒜瓣在 54°C 熱水處理15分鐘，則不僅發芽率僅爲60%，而且種植後其生長度受影響甚久。但對 GMV 之不活化效果能維持甚久，不僅影響當代植株而且一直至後代之病毒不活化。後代蒜瓣種植後80天與100天之植株抽樣接種結果，僅出現甚少量（1.0—4.5）局部病斑。

大蒜蒜球如需要熱風熱療處理，則蒜球以 40°C 熱風處理70天，蒜瓣以 40°C 熱風處理60天爲宜。

6.生長點培養所得之後代植株，不具嵌紋病，但仍有帶毒的情形發生。鳳選一號與鳳選二號兩個品種之組織培養苗72／73年期抽樣119株檢定結果獲知A級52.10% B 級20.01%，C—E級26.89%。

組織培養苗中，出現帶病毒之個體，很可能由於切取生長點太大所致，切取莖頂生長點愈大雖培養成活率愈高，但帶病毒之機會亦愈大；因此切取何種大小最適，有再作一系列試驗究明之必要。

7.一般蒜瓣含病毒很高，屬於 E 級者達83.33%，屬於 C 級者16.67%，而 A. B 兩級均無。但其珠芽苗所含之病毒較少，屬於 A 級者有7.14%，B 級者21.43%，C 級14.29%，E 級57.14%而且珠芽之珠球大小，相當於組織培養之第二代珠球大小，如配合適當之熱療或藥劑處理，再利用血清檢定方法或 ELISA 技術可很快的鑑定及培育無病毒級種苗（A 級）及低毒級種苗（B 級），可節省很多時間與人力，而且可減低大蒜健康種苗之培育成本。

參考文獻

1. 小寶原雄 1973 野菜のウイルス 誠文堂新光社
2. 王博仁、盧耀村 1973 染毒素病病毒馬鈴薯組織培養治療法 生物科學2：19—24
3. 王博仁、黃麗春 1974 大蒜莖頂生長點培養 中國園藝20（2）：79—87
4. 佐古宣道 1976 ニンニクのウイルス病（第一報） 日植病報42：383
5. 林昭雄、曾紹均、洪彩蓼 1982 大蒜無毒種苗培育技術之研究 農林廳蔬菜作物試驗研究彙報第一輯 P86-95
6. 林俊義 1982 臺灣大蒜毒素病之研究 臺灣農業18（3）：41—46
7. 翁榮南 1978 大蒜嵌紋病毒之研究 國立中興大學植物病理研究所碩士論文
8. 農林廳 1981 農業年報（民國七十年版）P201-202
9. 楊秀吉 1974 大蒜的莖頂生長點及組織培養 中國園藝20（4）：213—218
10. 蘇鴻基、陳永戊、劉慧卿 1976 大蒜嵌紋病原研究 中華植物保護學會民國65年年會論文提要。
11. Baker, K. F. 1962. Thermotherapy of planting material, Phytopathology 52 : 1244-1255.
12. Baker, R., and D. J. Phillips. 1962. Obtaining pathogen free stocks by shoot tip culture. Phytopathology 52 : 1242-1244.
13. Brierley, P., F. F. Smith. 1944. Some virus diseases of alliums. Phytopathology 34 : 990(Abstr.)
14. Havranek, P. 1972. Virus-free garlic clones obtained from meristem cultures. Ochrana Rostlin 8(4) : 291-298.
15. Havranek, P. 1974. Effect of virus diseases on garlic yield. Ochrana Rostlin. 10(4) : 251-256.
16. Hildebrandt, E. M. 1962. Heat treatments for eliminating virus from sweetpotato plants. Phytopathology 52 : 13-16.
17. Holling, M. 1965. Disease control through virus-free stock, Ann. Rev. Phytopath. 3 : 368-396.
18. Hollings, M., and O. M. Stone. 1970 Attempts to eliminate chrysanthemum stunt from chrysanthemum by meristem tip culture after heat treatment. Ann Appl. Biol. 65 : 311-312.
19. Kassanis, B. 1957. The use of tissue culture to produce virus-free clones from infected potato varieties, ibid. 45 : 422.
20. Kassanis, B. 1972. The production of virus-free clones of some British potato varieties. ibid. 59 : 447-450.
21. La, Yong-joon, 1973. Studies on garlic mosaie virus-its isolation, symptom expression in test plants, physical properties purification, serology and elctron microscopy. Korea J. Pl. Prot. 12(3) : 93-107.
22. Mori, K. 1971. Production of virus-free plants by means of meristem culture. Japan Agric. Res. Quart. 6 : 1-7.
23. Mukoo, H. 1975. Progress of chemotherapy for plant disease. Journal of Agri. Sci. Tokyo Univ. of Agr. Vol. 19(3, 4) : 113-184.
24. Nielsen, L. W. 1960. Elimination of the internal cork virus by culturing apical meristems of infected sweet potatoes. Phytopathogy 50 : 840-841.
25. Nyland, G., and A. C. Goheen, 1969. Heattherapy of virus diseases of perennial plants. Ann. Rev. Phytopath. 7 : 331-354.
26. Phillips, D. J. 1962. Control of carnation steak virus by shoot tip culture. Phytopathology 52 : 747.
27. Stace-Smith, R., and F. C. Mellor, 1968. Eradication of potato viruses X and S by thermotherapy and axillary bud culture. Phytopathology 58 : 199-203.
28. Taniguchi, T., and G. Taka, 1976. Purification of an inhibitor of plant virus infection occuring in the leaves of Chenopodium amaranticolor. Ann. Phytopath. Soc. Japan 42 : 42-45.
29. Wang, P. I. & C. Y. Hu. 1980. Regeneration of Virus-free plant through in vitro culture, Advances in Biochemical Engineering Plant Cell Cultures II, P62-99.

30. Yang, H. J. 1977. Tissue culture technique developed for asparagus propagation. Hort. Sci. 12(2) : 140-141.

Studies on the Raising Technique of Healthy Garlic Clones in the Tropics[1]

Chao-Hsiung Lin[2]

Summary

Garlic (Allium sativum) is one of the most important vegetable crops in Taiwan. However, the occurrences of garlic mosaic virus disease have been very prevalent due to the long term vegetative propagation, and greatly affect the yield and quality of crops. In order to rescue such serious viral harborings, the work of raising and multiplication of healthy garlic stocks should be carried out rapidly.

It has been found that the shoots of virus-infected plants are frequently devoid of viral particles or contain very low viral concentrations. Using shoot apical meristem culture become the principal techique for obtaining virus-free plants from generally infected stocks. Producing virus-free garlic clones through in vitro culture heve become one of the most effective measures to control garlic mosaic virus disease, but this techninque is slow and costly.

To date, the fifth-generation garlic stocks through meristem culture have already been raised by Fengshan Tropical Horticultural Experiment Station through overcoming lots of difficulties. The existence of GMV has been assayed with indicator plant (Chenopodium amaranticolor) and it was found that in average 52.10% of virus-free grade and 21.01% of mild symptom grade were obtained from five generations.

The virus contents were found to be higher in commercial planting cloves with 83.33% of severe sympton grade than in bulbils with 7.14% of virus-free grade and 21.43% of mild-symptom grade. Moreover, the size of bulbils are equivalent to the sizes of the second or third generation through in vitro culture. It is possible to reduce the cost of raising healthy stocks through the inactivation of virus, if combined with proper heat therapy and chemical treatments on mild-symptom or light symptom bulbils.

Although heat therapy can not eradicate the all virus particles, some effects of GMV inactivation were found. Treatment in 48-50°C hot water for 15 minutes seemed to be useful.

Treatmten in 54°C hot water for 15 minutes would reduce 40% of germination, and treatment in 54°C hot water for 30 minutes would be the critical point of lethal temperature and time.

If using 40°C hot air treatment, 70 days for seed bulbs and 60 days for seed cloves are recommended.

---

1. Contribution No. 1231 from Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Senior Horticulturist and Head, Department of Vegetable Crops, Fengshan Tropical Horticultural Experiment Station, TARI, Fengshan, Taiwan.